文章编号：1005-0906(2018)01-0008-07 DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20180102

玉米泛素活化酶基因家族鉴定及表达模式分析

赵秋芳，贾利强，马海洋，陈 曙，陈宏良

(中国热带农业科学院南亚热带作物研究所/农业部热带果树生物学重点实验室，广东 湛江 524091)

摘 要：通过生物信息学分析，从B73玉米全基因组中鉴定出4个泛素活化酶基因，分别命名为*ZmUBA1*～*ZmUBA4*。4个*ZmUBA*基因编码氨基酸数目在1 030～1 056 aa，编码蛋白分子量在114.63～117.39 kD，等电点在5.18～5.80，且均含有5个内含子。蛋白二级结构预测，4个基因编码的蛋白主要以α-螺旋和不规则卷曲为主，亚细胞定位预测4个基因均定位于细胞核中。荧光定量PCR结果表明，*ZmUBA1*基因在根、茎、叶、雄穗和雌穗中呈现组成性表达，*ZmUBA2*和*ZmUBA4*基因在雄穗表达量最高，*ZmUBA3*在叶片表达量最高，呈现组织特异性表达。*ZmUBA3*在盐和低温胁迫上调表达，*ZmUBA4*在盐胁迫时下调表达，说明*ZmUBA3*基因可能参与玉米低温和盐胁迫的应答，*ZmUBA4*可能参与玉米盐胁迫应答。

关键词：玉米；泛素活化酶；生物信息学；基因表达

中图分类号：S513.035.3 **文献标识码**：A

Identification and Expression Analysis of the Ubiquitin Activating Enzyme Gene Family in Maize

ZHAO Qiu-fang, JIA Li-qiang, MA Hai-yang, CHEN Shu, CHEN Hong-liang

(*Institute of South Subtropical Corp Research, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science/ Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture, Zhanjiang* 524091, China)

Abstract: Four ubiquitin activating enzyme(*UBA*) genes which designated as *ZmUBA1-4* were identified from the whole genome of B73 maize by using bioinformatics method. The polypeptide lengths of the *ZmUBA* genes ranged from 1 030 aa to 1 056 aa, and their predicted molecular weights ranged from 114.63 kD to 117.39 kD. The predicted pI had a range of 5.18 to 5.8, and all of the *ZmUBA* genes contained 5 introns. The predicted secondary structure suggested that the main structure of four proteins were alpha helix and random coil. The subcellular localization analysis showed that all of the *ZmUBA* proteins were located in the nucleus. Real-time qPCR assay showed that *ZmUBA1* gene was co-expressed in roots, stems, leaves, male spikes and female ears, the highest expression level of *ZmUBA2* and *ZmUBA4* were occured in the male spikes and *ZmUBA3* occured in leaves, and three genes showed tissue specific expression. The exression of *ZmUBA3* was up-regulated under salt and low temperature stresses, and *ZmUBA4* gene was down-regulated under salt stress, These results indicated that *ZmUBA3* may be involved into plant response to salt and low temperature stresses, and *ZmUBA4* only involved into plant response to salt stress.

Key words: Maize; Ubiquitin activating enzyme(*UBA*) gene; Phylogeny analysis; Gene expression

细胞生命周期中，存在着蛋白质的新陈代谢，蛋白质的产生和降解需要保持动态平衡，细胞内的各种生命活动才能正常进行。蛋白质的降解与合成一样备受国内外研究者的关注。泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome epathway，UPP)是细胞内ATP依赖的非溶酶体蛋白降解的主要途径，在真核生物中广泛存在，可以高效并高选择性地降解细胞内蛋白质[1]。在植物生长发育过程中，泛素-蛋白酶体途径广泛参与维持细胞周期运转、胚胎发育、细胞衰老、光形态建成、组织分化、花的发育、激素信号响

录用日期：2017-05-24

基金项目：中国热带农业科学院基本科研业务费专项(1630062015003，1630062017006，1630062016013)

作者简介：赵秋芳(1986-)，河南商丘人，助理研究员，硕士，研究方向为玉米育种和栽培方面。
E-mail：qiufangzhao@163.com
贾利强为本文通讯作者。E-mail：lqjia@mail.zaas.ac.cn

应、响应生物和非生物胁迫等多个生命过程[2~7]。

泛素活化酶是泛素-蛋白酶体途径主要成员之一,负责催化泛素蛋白酶体降解途径的第一步级联反应,是泛素与底物蛋白结合所需要的第一个酶[8]。研究表明,E1是一种广泛表达的多肽,含有位置固定的保守的半胱氨酸残基[9],目前已在兔子、酵母、人类、小鼠、小麦、拟南芥、烟草和茶树[10~18]多种物种中分离到*E1*家族基因。研究发现,在人类基因组存在E1a(1 058 aa)和E1b(1 018 aa)两个泛素活化酶蛋白,小麦基因组存在3个E1蛋白,其分子量分别为117、123、126 kDa;拟南芥中存在*AtUBA1*和*AtUBA2*基因编码泛素活化酶,编码蛋白分子量为120.3 kDa和119.6 kDa,且两个基因编码蛋白存在81%的相似氨基酸。酵母基因组编码单一的*UBA1*,而且这个基因失活是致死的,说明这个蛋白对于细胞的生存是至关重要的[19]。

虽然在众多物种中发现*E1*家族基因,但基因功能仍不清楚。高等植物中,有关*E1*家族基因的研究大多集中模式植物拟南芥和小麦上,在重要粮食作物玉米中仍未见报道。本文基于*E1*家族基因的保守结构,在玉米基因组中搜索到4个*E1*家族基因,利用生物信息学方法分析玉米*E1*家族基因基本理化性质、基因结构、蛋白质二级结构和进化关系,同时利用荧光定量PCR方法,进一步分析*E1*基因在不同组织的特异表达及其在高盐、干旱、低温等非生物胁迫下的表达,为玉米*E1*家族基因的研究积累资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米品种为B73,在玉米抽穗期分别对玉米根、茎、叶、雄穗和雌穗进行取样,-80℃保存备用。

非生物胁迫处理试验:选取B73生长饱满的种子,表面消毒杀菌后,28℃催芽2 d,后转入霍格兰营养液培养至玉米3叶1心时,选取生长一致玉米幼苗各12株进行非生物胁迫处理,具体处理方法:①低温处理:将幼苗置于4℃培养箱培养;②干旱处理:将幼苗置于20% PEG-6000溶液中;③盐处理:将幼苗置于200 mmol/L NaCl溶液中,分别在处理后0、1、6、24 h采集玉米幼苗样品,迅速用液氮速冻,放入-80℃冰箱保存,备用。

1.2 玉米泛素活化酶基因鉴定

根据已知的拟南芥UBA蛋白序列在玉米基因组数据库MaizeGDB和Phytozome11.0(https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html)搜索玉米*UBA*候选基因,并利用SMART(http://smart.embl-heidelberg.de/)在线工具鉴定候选基因的氨基酸序列结构域,凡是含有*UBA*基因保守结构域的蛋白即为玉米*UBA*成员。在玉米基因组数据库查找玉米*UBA*基因的CDS、氨基酸数目、染色体定位、内含子数目等基本信息;利用GSDS(http://gsds.cbi.pku.edu.cn/)在线工具对玉米*UBA*基因结构进行作图。利用Expasy roteomics Server (http://web.expasy.org) 在线工具进行分子量、等电点、不稳定指数、总平均疏水性的分析;利用在线SOPMA程序(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)预测玉米UBA蛋白的二级结构;运用plant-mploc(http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/)进行UBA蛋白的亚细胞定位。

1.3 玉米泛素活化酶序列比对和进化树分析

利用Clustal X1.83对玉米、拟南芥、小麦*UBA*家族氨基酸序列进行多重序列比对,并用MEGA 6.0构建玉米、拟南芥、小麦的UBA家族成员进化树,分析不同物种间的进化关系。进化树采用遗传距离建树法的相邻连接法(Neighbor-Joining,NJ)建树,并对进化树进行自检,重复1 000次。

1.4 玉米泛素活化酶基因表达分析

表1 玉米*UBA*基因实时荧光定量PCR分析所用引物

Table1 Primer sequences used in quantitative real-time PCR analysis of *UBA* genes of maize

基因名称 Gene name	正向引物(5′-3′) Forward primer(5′-3′)	反向引物(5′-3′) Reverse primer(5′-3′)	退火温度(℃) Annealing temperature	产物长度(bp) Product length
ZmUBA1	TGCACAGAAGCTGATAGACCT	AACCTCCTGGCCTACAATACCG	54.3	163
ZmUBA2	TCTCTGCCAGTTGAACCGTTG	ACATCCAAGAGCCCCAGAACC	53.9	147
ZmUBA3	ACCGTGCTTCTCCAGATACCG	AGTACAGGCACCTCATGTCC	54.0	123
ZmUBA4	ACCAAGAAACTACCTCCGAGA	TTTGCCTTCAGCTTGTCAACC	53.4	149
ACTIN	TCACTACGACTGCCGAGCGAG	GAGCCACCACTGAGGACAACATTAC	56.4	348

采用植物RNA提取试剂盒提取玉米总RNA，样品RNA经检测质量和浓度后，利用M-MLV(Rnase H^-)逆转录酶(TaKaRa公司)反转录得到cDNA模板，稀释备用。根据玉米*UBA*基因序列，采用Primer Premier 5.0软件进行设计定量引物，玉米*ACTIN*基因引物参考Jue D, et al.文献设计[20]，实验所用引物由上海生工生物工程公司合成，引物序列信息详见表1。荧光实时定量PCR反应在Roche lightCycler480中进行，荧光实时定量PCR试剂盒为TaKaRa公司提供的SYBR Green Realtime PCR Master mix。PCR总反应体系为10 μL，包括SYBR Premix Ex Taq™ Ⅱ 5 μL，上下游引物(10 μmol/L)各1 μL，cDNA模板1 μL，无菌双蒸馏水2 μL。PCR反应程序为，95℃预变性30 s，95℃变性5 s，60℃退火30 s，72℃延伸30 s，共进行40个循环，3次重复。*UBA*基因的相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行计算，表达量上调2倍或者下调1/2以上认为存在差异表达。

2 结果与分析

2.1 玉米*UBA*基因家族鉴定

表2 玉米*UBA*家族基因信息

Table 2 Information on *UBA* family genes in maize

基因名称 Gene name	基因组编号 Number of gene model	染色体位置 Chromosomal location	基因方向 Gene direction	基因长度(bp) Gene length	CDS(bp)
ZmUBA1	GRMZM2G057441	Chr10:1152579-1158548	reverse	5 970	3 156
ZmUBA2	GRMZM2G111818	Chr4:183621685-183628112	reverse	6 428	3 171
ZmUBA3	GRMZM2G134480	Chr7:174785186-174790941	forward	5 756	3 153
ZmUBA4	GRMZM2G135337	Chr1:45782959-45789351	reverse	6 393	3 093
基因名称 Gene name	氨基酸数(aa) Number of amino acids	分子量(kDa) Molecular weight	等电点 Isoelectric point	不稳定指数 Instability index	总平均疏水指数 Grand average of hydropathicity
ZmUBA1	1 051	116.96	5.80	35.51	-0.259
ZmUBA2	1 056	117.39	5.18	34.65	-0.240
ZmUBA3	1 050	116.45	5.41	34.37	-0.201
ZmUBA4	1 030	114.63	5.46	32.54	-0.149

根据已知的拟南芥*UBA*家族基因的氨基酸序列在玉米全基因组中共鉴定出4个玉米*UBA*基因，分别命名为*ZmUBA1*～*ZmUBA4*，并对其染色体位置、基因方向、CDS和氨基酸数目等理化性质进行分析(表2)。由表1可知，4个*ZmUBA*基因分别定位于10、4、7、1号染色体，基因长度在5 756～6 428 bp，CDS在3 093～3 171 bp，氨基酸数目在1 030～1 056 aa，蛋白分子量在114.63～117.39 KD，均非常相似。*ZmUBA1*、*ZmUBA2*、*ZmUBA4*的基因方向为反向，*ZmUBA3*的基因方向为正向。4个ZmUBA蛋白的等电点在5.18～5.80，均呈酸性；不稳定指数在32.54～35.51，均为稳定蛋白；疏水性在-0.259～0.149，均为疏水性蛋白。基因结构分析结果表明，4个*ZmUBA*基因均含有5个内含子、6个外显子，其基因结构也非常相似(图1)。

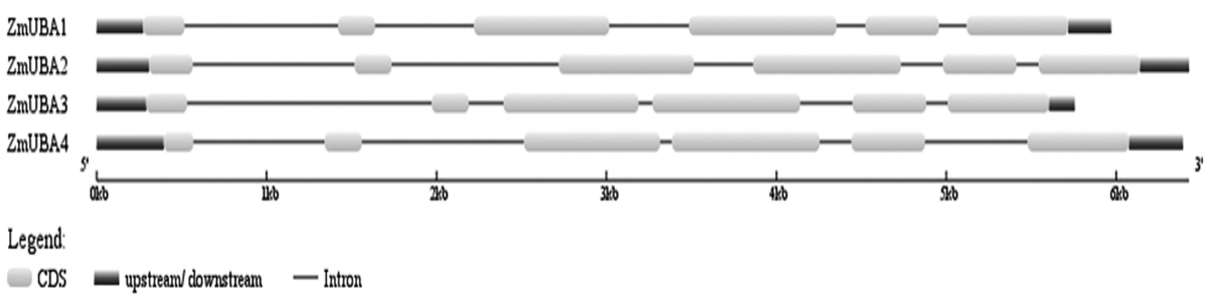


图1 玉米*UBA*基因内含子外显子结构

Fig.1 The intron-exon structures of *UBA* genes in maize

表3　玉米UBA蛋白的二级结构及亚细胞定位

Table 3　The secondary structure and subcellular location of UBA protein in maize　　%

蛋白名称 Protein name	α-螺旋 α-helix	扩展链结构 Extended chain structure	β-转角 β-corner	无规则卷曲 Random coil	亚细胞定位 Subcellular localization
ZmUBA1	41.58	16.94	7.14	34.35	Nucleus
ZmUBA2	41.95	17.42	7.20	33.43	Nucleus
ZmUBA3	45.81	16.19	7.62	30.38	Nucleus
ZmUBA4	41.26	20.00	7.86	30.87	Nucleus

4个玉米ZmUBA蛋白的二级结构预测结果表明,α-螺旋结构所占比例最大,在41.26%～45.81%;其次为无规则卷曲结构,在30.38%～34.35%;扩展链结构和β-转角结构所占比例较小,其蛋白的二级结构以α-螺旋和无规则卷曲结构为主。亚细胞定位结果表明,4个*ZmUBA*蛋白均被定位在细胞核中(表3),说明玉米UBA蛋白主要在细胞核内发挥作用。

2.2　玉米*UBA*基因序列比对和系统进化树分析

利用已知的拟南芥和小麦UBA与玉米UBA蛋白做系统进化树分析(图2)。双子叶植物拟南芥和单子叶植物玉米和小麦的UBA蛋白的相似性极高,说明在植物分化为单子叶和双子叶植物之前*UBA*基因已经存在,*UBA*基因家族进化非常保守。序列比对结果证明,玉米UBA蛋白与其他植物蛋白序列相似性非常高,并且均含有位置固定且保守的半胱氨酸残基的,这一结果也验证了该基因家族进化非常保守性(图3)。

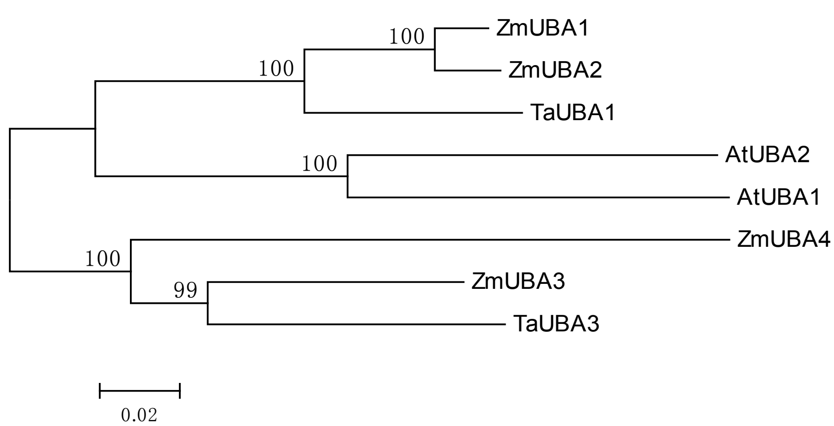


图2　玉米、拟南芥和小麦UBA蛋白的系统进化树

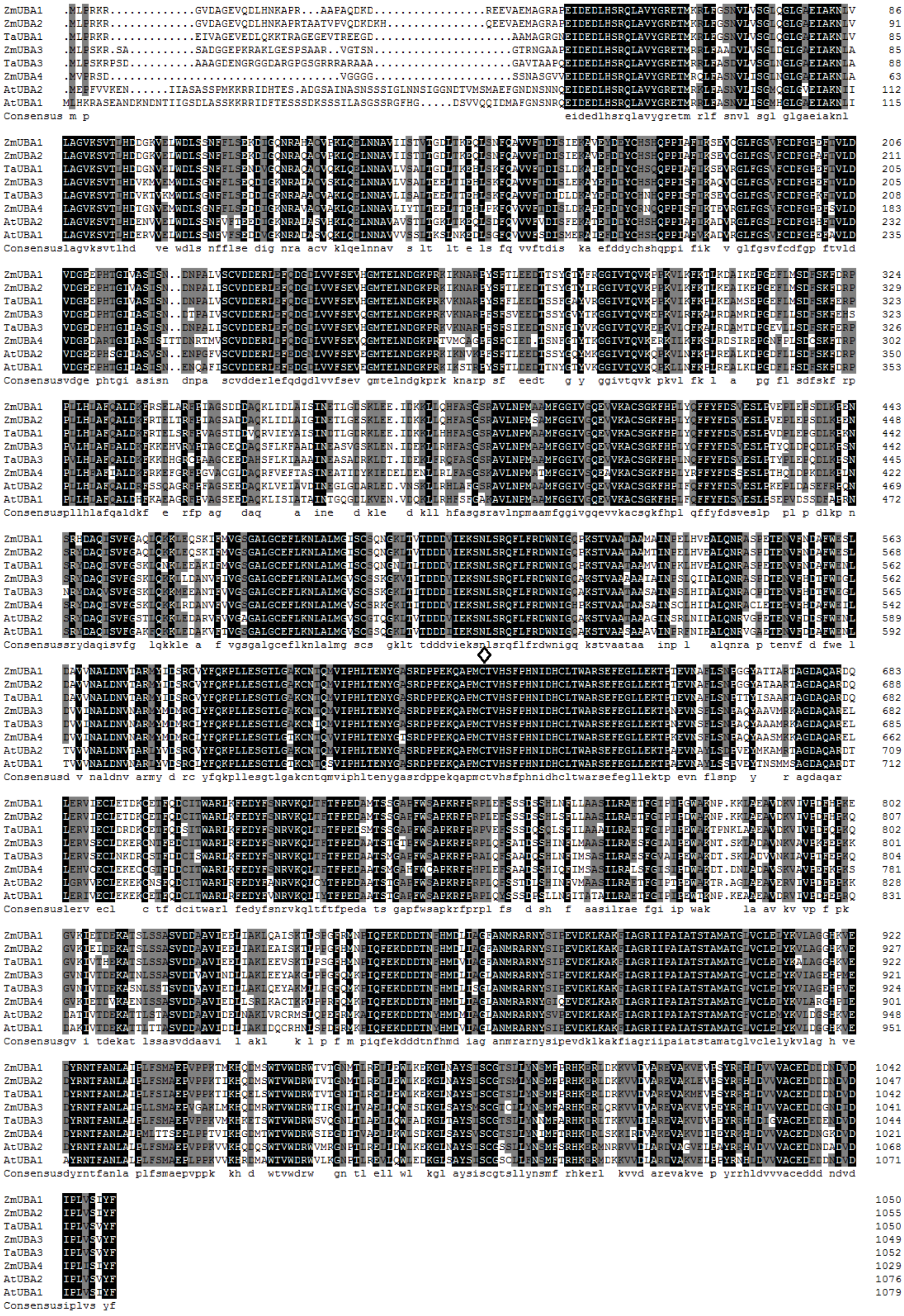
Fig.2　Phylogenetic tree of UBA protein in maize, *Arabidopsis thaliana* and wheat

2.3　玉米*UBA*基因在不同组织器官中的表达模式分析

采用玉米根、茎、叶、雄穗、雌穗5个组织来分析其表达差异(图4)。图4所示,*ZmUBA1*在玉米各组织间无显著表达量的差异,呈现组成性表达的模式。*ZmUBA2*基因在雄穗中表达量最高,雌穗和茎间的表达差异达显著水平。*ZmUBA3*基因在叶片中的表达量最高,分别是根、茎、雄穗、雌穗的1.66、2.04、2.09和2.81倍,雌穗的表达量最低。*ZmUBA4*基因在雄穗的表达量最高,分别为根、茎、叶、雌穗表达量的5.44、8.84、11.42、15.03倍,雌穗的表达量最低,在各组织间呈现特异性表达模式。

2.4　玉米*UBA*家族基因在非生物胁迫下的表达分析

利用荧光定量qPCR方法分析4个基因在干旱、盐和低温处理下的表达模式。图5所示,*ZmUBA1*、*ZmUBA2*基因在盐、干旱和低温胁迫条件下,表达量未有明显变化,表明*ZmUBA1*、*ZmUBA2*基因对盐、干旱和低温胁迫条件无响应。*ZmUBA3*基因盐处理表达量呈升高趋势,处理1 h后表达量最高,为对照的2.20倍,6 h表达量为对照的2.01倍,在24 h后略有下降。在干旱胁迫下,*ZmUBA3*基因表达量呈现升高趋势,但其表达量差异未达2倍。在低温处理下,6 h后基因表达量最高,为对照的2.14倍,24 h表



注：相同氨基酸残基用黑色背景表示；灰色背景表明此氨基酸残基的相似性超过 75%；菱形所指位置为预测的活性位点 Cys。

Note: The identical amino acid residues were indicated with black background, and gray shade indicated 75% or more, conservation among all the aligned sequences, rhombic means the predicted active site Cys.

图3 玉米与拟南芥、小麦 UBA 蛋白的氨基酸序列比对

Fig.3 Alignment of amino acid sequence among maize and *Arabidopsis*, wheat UBA

达量下降。*ZmUBA4*在高盐处理下表达量呈下降趋势,在24 h表达量最低,仅为对照的0.39倍,差异显著。在干旱和低温下,*ZmUBA4*基因的表达量均未发现明显变化。

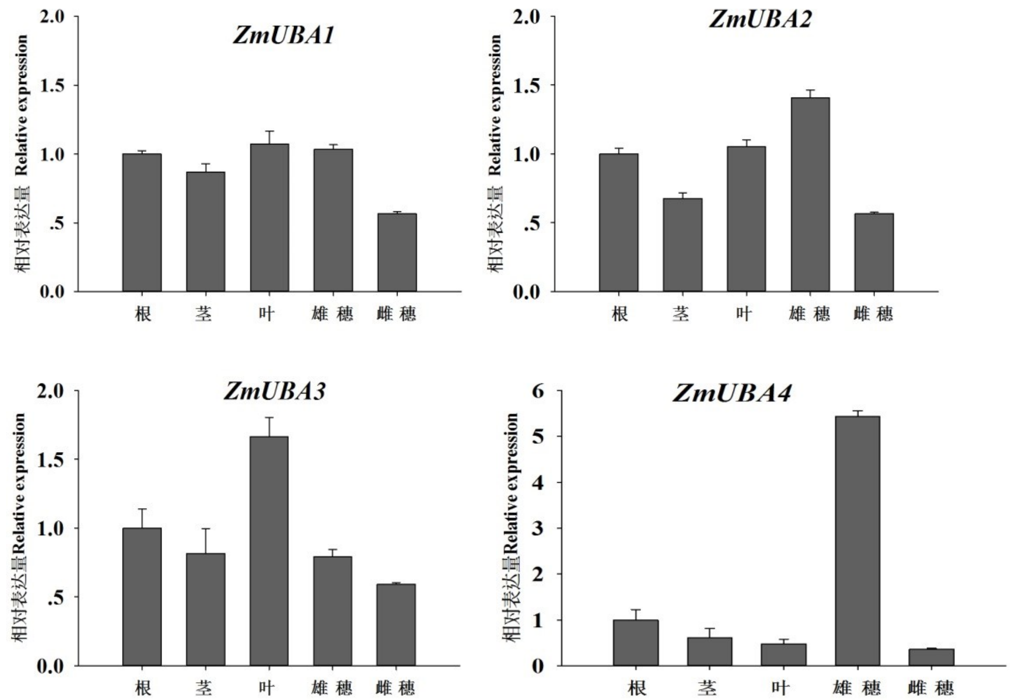


图4　玉米*UBA*家族基因在不同组织的表达分析

Fig.4　Expression level of *ZmUBA* in various tissues of maize

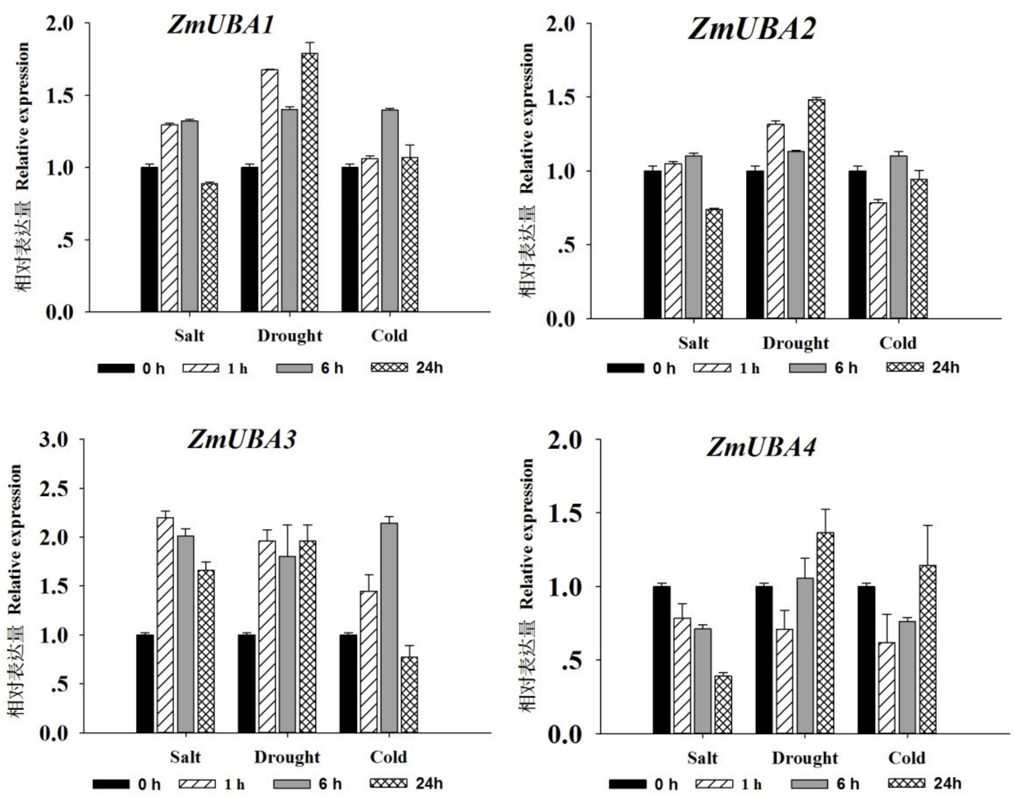


图5　玉米*UBA*基因在高盐、干旱和低温处理下的Real-time PCR表达模式分析

Fig.5　Real-time PCR analysis of expression levels of the *UBA* gene in maize under cold, drought and salt stresses treatments

3 结论与讨论

泛素活化酶是激活泛素分子所需要的第一个酶，在泛素-蛋白酶体系统中发挥重要作用。从玉米全基因组中鉴定出4个玉米泛素活化酶基因，命名为*ZmUBA1*～*ZmUBA4*，生物信息学分析发现编码氨基酸在1 050 aa左右，蛋白分子量均在115 kD左右，与已知的拟南芥、小麦和烟草的UBA蛋白非常接近，而且*ZmUBA*家族成员间具有非常相似的氨基酸序列。序列比对分析发现，玉米、拟南芥和小麦的UBA蛋白序列非常相似，均包含C的活性位点，表明在进化过程中*UBA*基因家族具有高度的保守性。另外*ZmUBA*基因编码氨基酸数量与*AtUBA*基因均非常接近，内含子数量和结构均一致，这也证明了*UBA*基因家族进化的保守性。

泛素活化酶作为泛素蛋白酶体介导的蛋白质降解系统中第一个关键酶，其组织表达模式有可能对植物的组织建成和生长发育起重要作用。本研究表明，*ZmUBA*基因不同组织均有表达，但4个*ZmUBA*基因的组织表达模式存在差异。*ZmUBA1*呈组成性表达，*ZmUBA2*和*ZmUBA 4*在雄穗中表达量最高，*ZmUBA3*在叶片中表达量最高，另外，*ZmUBA3*和*ZmUBA 4*均在雌穗表达量最低。上述结果说明，*ZmUBA2*、*ZmUBA3*、*ZmUBA4*基因可能对玉米不同组织发育，特别是对玉米雄穗发育起到一定的作用。拟南芥*UBA*基因主要在维管束的薄壁细胞、新叶、分生组织、花药、子房和柱头等代谢活跃的组织部位中有较高的表达量。

研究发现，高等植物在应对高温、干旱、病害等生物和非生物逆境胁迫时会产生各种胁迫蛋白[21]，而泛素蛋白酶体途径(UPP)作为蛋白质降解的主要途径，参与植物的逆境调节过程。在烟草中的研究发现，烟草花叶病毒(TMV)和番茄花叶病毒(ToMV)侵染烟草后*NtE1A*和*NtE1B*均上调表达，而黄瓜花叶病毒(CMV)侵染后其表达量变化不大，另外，在烟草受到机械伤害以及水杨酸、茉莉酸、乙酸等激素处理时，*NtE1A*和*NtE1B*基因均上调表达，表明泛素活化酶在烟草应答生物和非生物逆境胁迫中发挥作用。在拟南芥中超表达耐盐植物香雪球的*LmVHA-E1*基因后，显著提高了拟南芥的耐旱和耐盐能力[22]，该研究结果也更进一步证实*E1*基因对逆境胁迫的调节作用。在番茄上的研究结果也表明，番茄*SlUBA1*基因在低温、盐和干旱胁迫后均上调表达[23]。本研究中，*ZmUBA1*和*ZmUBA2*对低温、盐和干旱胁迫没有明显响应；*ZmUBA3*在盐和低温胁迫时上调表达，对干旱胁迫无响应；*ZmUBA4*在盐胁迫时下调表达，对干旱和低温胁迫没有明显响应，说明*ZmUBA3*基因可能参与了玉米低温和盐胁迫的应答，*ZmUBA4*可能参与玉米盐胁迫应答，而4个*ZmUBA*基因对干旱胁迫均没有明显应答。

参考文献：

[1] Vierstra R D. Proteolysis in plants: mechanisms and functions[J]. Plant Molecular Biology, 1996, 32(1-2): 275-302.

[2] Welchman R L, Gordon C, Mayer R J. Ubiquitin and ubiquitinlike proteins as multifunctional signals[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2005, 6(8): 599-609.

[3] Sadanandom A, Bailey M, Ewan R, et al. The ubiquitinproteasome system: central modifier of plant signaling[J]. New Phytologist, 2012, 196(1): 13-28.

[4] Xu L, Ménard R, Berr A, et al. The E2 ubiquitin-conjugating enzymes, *AtUBC1* and *AtUBC2*, play redundant roles and are involved in activationof FLC expression and repression of flowering in Arabidopsis thaliana[J]. The Plant Journal. 2009(57): 279-288.

[5] Cui F, Liu L, Zhao Q, et al. Arabidopsis ubiquitin conjugase UBC32 is an ERAD component that functions in brassinosteroidmediated salt stress tolerance[J]. The Plant Cell, 2012(24): 233-244.

[6] Smalle J, Vierstra R D. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway[J]. Plant Biology, 2004, 55: 555-590.

[7] Santner A, Estelle M. The ubiquitin- proteasome system regulates plant hormone signaling[J]. The Plant Journal, 2010, 61: 1029-1040.

[8] Glickman M H, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction[J]. Physiological reviews, 2002, 82(2): 373-428.

[9] Willis M S, Patterson C. Into the heart: the emerging role of the ubiquitin - proteasome system[J]. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2006, 41(4): 567-579.

[10] Sun B, Jeyaseelan K, Chung M C M, et al. Rabbit ubiquitin-activating enzyme E1: cDNA cloning, sequence and expression[J]. Gene, 1997, 196(1): 19-23.

[11] Dohmen R J, Stappen R, McGrath J P, et al. An essential yeast gene encoding a homolog of ubiquitin- activating enzyme[J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(30): 18099-18109.

[12] Zheng M, Liu J, Yang Z, et al. Expression, purification and characterization of human ubiquitin-activating enzyme, UBE1[J]. Molecular Biology Reports, 2010, 37(3): 1413-1419.

[13] Mitchell M J, Woods D R, Tucker P K, et al. Homology of a candidate spermatogenic gene from the mouse Y chromosome to the ubiquitin-activating enzyme El[J]. Nature, 1991, 354(6353): 483-486.

[14] Hatfield P M, Vierstra R D. Ubiquitin-dependent proteolytic pathway in wheat germ: isolation of multiple forms of ubiquitin-activating enzyme, E1[J]. Biochemistry, 1989, 28(2): 735-742.

[15] Hatfield P M, Vierstra R D. Multiple forms of ubiquitin-activating enzyme E1 from wheat. Identification of an essential cysteine by in vitro mutagenesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 1992, 267 (21): 14799-14803.

（下转第19页）

1 d;调查的穗长、穗粗、穗行数等13个产量相关性状上,2个转基因组合的小区产量、穗重、穗长等显著高于对照,WY-1-2×AKF65组合的行粒数和粒厚显著高于对照,其他性状无显著变化。可见,通过转基因方法与传统育种方法密切结合来改良现有玉米品种性状,选育出非目标农艺性状基本保持不变、目标性状显著改善的玉米新品种是完全可能的。

参考文献:

[1] Van Camp W. Yield enhancement genes: Seeds for growth[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2005, 16(2): 147-153.

[2] Sirko A, Brodzik R. Plant ureases: roles and regulation[J]. Acta Biochimica Polonica, 2000, 47(4): 1189-1195.

[3] 杨洪强,高华君 . 植物精氨酸及其代谢产物的生理功能[J] . 植物生理与分子生物学学报,2007,33(1):1-8 .
Yang H Q, Gao H J. Physiological function of arginine and its metabolites in plants[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2007, 33(1): 1-8. (in Chinese)

[4] 马雪峰 . 水稻氮代谢相关基因*OsARG*的克隆与功能分析[D] . 中国农业科学院,2011 .

[5] 张　佩 . 玉米精氨酸酶基因*ZmArg*的克隆与遗传转化[D] . 东北农业大学,2013 .

[6] 郭新海,祖洪月,杨　帆,等 . 转精氨酸酶基因*ZmARG*玉米后代株系的遗传稳定性分析和功能验证[J] . 玉米科学,2017,25(1):34-38 .
Guo X H, Zu H Y, Yang F, et al. The genetic stability analysis and functional verification of transgenic maize with *ZmARG* gene[J]. Journal of Maize Sciences, 2017, 25(1): 34-38. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)

(上接第14页)

[16] Hatfield P M, Gosink M M, Carpenter T B, et al. The ubiquitin-activating enzyme(*E1*) gene family in Arabidopsis thaliana[J]. Plant Journal. 1997, 11: 213-226.

[17] Takizawa M, Goto A, Watanabe Y. The tobacco ubiquitin-activating enzymes NtE1A and NtE1B are induced by tobacco mosaic virus, wounding and stress hormones[J]. Molecules & Cells(Springer Science & Business Media BV), 2005, 19(2): 228-231.

[18] 邓婷婷,吴　扬,李　娟,等 . 茶树泛素活化酶基因全长cDNA克隆及序列分析[J] . 茶叶科学,2012,32(6):500-508 .
Deng T T, Wu Y, Li J, et al. Cloning and sequencing of *UBA1* gene full-length cDNA from tea plant[J]. Journal of Tea Science,2012, 32(6): 500-508. (in Chinese)

[19] Stephen A G, Trausch-Azar J S, Ciechanover A, et al. The ubiquitin-activating enzyme E1 is phosphorylated and localized to the nucleus in a cell cycle- dependent manner[J]. Journal of Biological Chemistry, 1996, 271(26): 15608-15614.

[20] Jue D, Sang X, Lu S, et al. Genome-wide identification, phylogenetic and expression analyses of the ubiquitin- conjugating enzyme gene family in maize[J]. PloS one, 2015; 10(11): 1-20.

[21] O′Mahony P J, Oliver M J. The involvement of ubiquitin in vegetative desiccation tolerance[J]. Plant Molecular Biology, 1999, 41(5): 657-667.

[22] Dabbous A, Saad R B, Brini F, et al. Over-expression of a subunit E1 of a vacuolar H^+- ATPase gene(*Lm VHA-E1*) cloned from the halophyte Lobularia maritima improves the tolerance of Arabidopsis thaliana to salt and osmotic stresses[J]. Environmental and Experimental Botany, 2017, 137(2): 128-141.

[23] 赵秋芳,马海洋,陈　曙,等 . 番茄泛素活化酶基因家族进化及表达模式分析[J] . 热带作物学报,2017,38(6):1081-1087 .
Zhao Q F, Ma H Y, Chen S,et al. Identification and expression analysis of the ubiquitin activating enzyme gene family in tomato[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 38(6): 1081- 1087. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)